Aus dem Bakterioligisch-serologischen Institut des Allgem. Krankenhauses der Stadt der Reichsparteitage in Nürnberg
(Vorstand: Obermedizinalrat Prof. Dr. Süßmann)

Zur Differenzierung der Coli-Aerogenes-Gruppe.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen

vorgelegt von
Josephine Englert
aus Kaiserslautern

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 2. 1941.

1941
Buchdruckerei Karl Döres, Erlangen, Jägerstraße 3

1941№52

Referent: Prof. Dr. Süßmann.

Dekan: Prof. Dr. Greving.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern.

Bei der bakteriologischen Untersuchung von Fäkalien und allen möglichen Stoffen, wie Milch oder Wasser, die mit Fäkalien in Berührung kommen können, z. T. auch in Eiter oder anderen Körperstoffen, stößt man immer wieder auf eine große Gruppe ähnlicher Bakterien, die man zusammenfassend als die

Coli - Aerogenes - Gruppe

bezeichnen kann.

Es handelt sich um gramnegative, stets sporenlose Stäbchen, die auf allen üblichen bakteriologischen Nährböden aerob gut und ziemlich farblos wachsen, ohne auf der Agarplatte immer besonders bezeichnende oder einheitliche Kolonieformen zu zeigen. Meist sind die Kolonien rund und glatt, manchmal kuppenförmig-schleimig, bald sind sie auch trockener, weinblattförmig gebuchtet und oberflächlich gerillt. Traubenzucker und auch Milchzucker werden gewöhnlich unter Säure- und Gasbildung vergoren; aus Pepton wird zumeist Indol gebildet, aber kein Schwefelwasserstoff.

Die starken Schleimbildner lenkten die Aufmerksamkeit besonders auf sich; da sie vielfach außergewöhnlich heftige Gasbildung aus Zucker zeigten, nannte sie Escherich (1) 1886 Bact. lactis aerogenes. Sie gelten als unbeweglich und geißellos.

Die durch peritriche Geißeln beweglichen Stämme aber, denen das Schleimbildungsvermögen fehlt, bezeichnete Escherich (1) 1886 als Bact. coli commune. Kaum übersehbar sind die Varianten dieses Bakteriums, die im Laufe der Jahre beschrieben wurden; unzählig die Modifikationen der Kulturbedingungen, durch die Ab- und Unterarten unterscheidbar gemacht werden sollten. Für die Zwecke dieser Dissertation seien nur zwei derselben herausgehoben, das Bact. immobile Kruse 1896 (2), das, wie der Name sagt, keine Eigenbewegung aufwies, und das Bact. cloacae Jordan (3) 1893, dem im Gegensatz zu anderen Varianten der Gruppe Verflüssigung der Gelatine zugesprochen wurde.

Besonderes Interesse galt stets der einwandfreien Unterscheidung des Bacterium coli von Bacterium aerogenes; denn wenn sich dieses in typischer Ausprägung durch seine Unbeweglichkeit, Schleimkolonien und starke Gasbildung auch deutlich vom ersteren abhebt, so sind diese Kriterien doch keineswegs so konstant, daß sie immer sichere Schlüsse zulassen. Die Aerogenesbakterien können ihre Schleimbildung und überstarke Fermentation verlieren und entsprechen dann dem Bact. acidi lactici Hueppe (4) 1884, andererseits ist die Beweglichkeit der Colibakterien oft sehr gering oder kann nach Kruse, wie erwähnt, auch ganz fehlen. Eine sichere Unterscheidung ist aber nicht nur von theoretischer Bedeutung, sondern hat auch praktischen Wert, namentlich für die bakteriologische Untersuchung des Wassers; denn man nimmt an, daß nur der Befund von echten Colibakterien im Wasser auf eine frische Verunreinigung mit Fäkalstoffen hinweist.

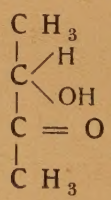
Unter den neuen Unterscheidungsmitteln zwischen Coli und Aerogenes sind besonders hervorzuheben:

1. Die Acetylmethylcarbinolprobe (AMC-Probe).
2. Die Zitronensäurevergärung.

Die AMC-Probe.

Wie Wernig (5) beschreibt, beruht die durch amerikanische Autorer bearbeitete, aber in allen Einzelheiten noch nicht chemisch aufgeklärte Reaktion auf diesen 2 Grundtatsachen:

a) Von einer Reihe von Bakterien wird aus Traubenzucker neben anderen Spaltprodukten unter bestimmten Kulturbedingungen Acetylmethylcarbinol (AMC)



gebildet.

b) Zusatz von Alkalien führt bei Anwesenheit bestimmter Eiweißspaltprodukte oder anderer komplexer N-Verbindungen und unter Mitwirkung des Luftsauerstoffs das AMC in einen roten Chinonfarbstoff über.

In dieser einfachen Form (Zusatz von Lauge zur bebrüteten Dextrosepeptonbrühe und Stehenlassen an der Luft) ist die Reaktion seit 1898 als Voges-Proskauersche Reaktion bekannt; doch wurde sie schon vorher beobachtet (6). Sie zeigte aber bei den damit geprüften Bakterien solche Schwankungen im Ausfall, daß sie in die allgemeine bakteriologische Untersuchungstechnik bisher keinen Eingang fand. Neuerdings wurde sie unter Verwertung amerikanischer Forschungsergebnisse von Wernig (a. a. O.) entscheidend verbessert. Ohne auf die von ihm gegebene Begründung seiner Abänderungen näher einzugehen, sei die von mir übernommene Art und Weise der Durchführung der AMC-Probe beschrieben:

a) Als Nährlösungen wurden 2 Medien verwendet, von denen vorweggenommen sei, daß sie durchaus die gleichen Ergebnisse lieferten und optimale Bedingungen für die Bildung von AMC zeigten:

1. Nährlösung nach O'Meara:

Natriumchlorid	5,0 g	
Magnesiumsulfat	4,2 g	
Dikaliumphosphat	1,0 g	
Diammoniumphosphat	1,0 g	
Natriumfumarat	10,0 g	(als Wasserstoffakzeptor zur Verhinderung der nachträglichen Reduktion des gebildeten AMC.)
Natriumzitrat	2,7 g	
Glukose	5,0 g	
Aqua dest.	1000 ccm	

2. Nährlösung nach Wernig:

Ammoniumchlorid	2,0 g	
Magnesiumsulfat	0,2 g	
Dikaliumphosphat	1,0 g	
Natriumacetat	15,0 g	(als Wasserstoffakzeptor)
Glukose	5,0 g	
Aqua dest.	1000 ccm	

Die Lösungen wurden in Mengen von 5 ccm in Reagenzgläser abgefüllt und dann 20 Minuten gedämpft. Die Beimpfung

erfolgte unter Verwendung frisch sterilisierter Pipetten mit 0,1 ccm 20 stündiger Bouillon-Brutschrankkulturen. Dann wurden die Röhrchen 20—24 Stunden im Brutschrank gehalten; Parallelversuche mit 48 Stunden bebrüteten Nährlösungen zeitigten die gleichen Resultate.

b) Die Reagentien bestehen einmal aus einer 2%igen Lösung von Kreatin oder Dicyandiamid (Zweck: Ersatz der unbestimmten Spaltprodukte der früher verwendeten Peptonnährlösungen durch definierte, weniger komplexe N-Verbindungen) und sodann aus der Kupfersulfatlauge nach Leifson, deren Cu-Ionen den Eintritt der Farbreaktion katalytisch beschleunigen.

Sie hat folgende Zusammensetzung:

konz. Ammoniak	10,0 ccm	zuerst
Kupfersulfat kryst.	0,25 g	lösen
Natronlauge 15%	240,0 ccm	

Man gibt zu 2,5 ccm einer bebrüteten Nährlösung 10 Tropfen der Kreatin- oder Dicyandiamidlösung und gleich anschließend 2,5 ccm der Leifsonschen Lösung. Unter heftigem Schütteln wird über der Bunsenflamme erhitzt; man erhält dann bei positiver Reaktion nach wenigen Sekunden eine Rotfärbung, die bei Dicyandiamid etwas ins Violette spielt.

Die Zitronensäurevergärung.

Manche Bakterien besitzen die Fähigkeit, Zitronensäure als einzige C-Quelle in nährstoffarmen Nährmedien zu verwerten. Sie zeigen dann mehr oder minder üppiges Wachstum. Im Verlaufe der Zitronensäurevergärung kommt es zu einer Reaktionsänderung, meistens nach der alkalischen, zum Teil auch nach der sauren Seite, öfters wird auch ein anfänglicher Umschlag ins Alkalische durch nachfolgende Säuerung überkompensiert.

Bei fehlender Zitronensäureassimilation tritt weder Wachstum noch Aenderung der Wasserstoff-Ionenkonzentration auf.

1923 hat Koser (7) die Zitronensäurevergärung erstmalig als Bakterienunterscheidungsmittel herangezogen. Er benützte dazu folgende Nährlösung:

Dikaliumphosphat	1,0 g
Magnesiumsulfat	0,2 g
Natriumchlorid	5,0 g
Diammoniumphosphat	1,0 g
Aqua dest.	1000,0 ccm,

der 2,5 g Natriumzitrat zugegeben wurde.

Simmons (8) verwendete 1926 einen festen Nährboden, indem er der Koserschen Lösung 2% Agar zusetzte. Dabei sollte der durch Bromthymolblau als Indikator angezeigte Reaktionsumschlag rascher zur Beobachtung kommen. Minkewitsch und Rogosin (9) fanden 1932 dieses „Simmonssubstrat" mit einer modifizierten Salzgrundlage noch besser geeignet. Mit Hohn und Herrmann (10) habe ich mich ihrer Methodik angeschlossen:

a) Zunächst wird folgende Salzlösung hergestellt:

Mononatrium-Monoammoniumphosphat	1,5 g
Monokaliumphosphat	1,0 g
Magnesiumsulfat	0,2 g
Aqua dest.	1000,0 ccm

Agar (20 g bester Stangenqualität) wird in kleine Stücke geschnitten und 2 Tage lang in Aqua dest. unter täglich mehrmaliger Erneuerung des Wassers eingeweicht. Nach Abgießen des Wassers wird er jedesmal mit dem Schaumlöffel ausgedrückt. Schließlich wird er in die Salzlösung gegeben und durch 10minütige Autoklavierung (1 Atm.) gelöst, zuletzt filtriert. Aufbewahrt wird dieses „Simmonssubstrat" in Kölbchen zu 200 ccm, die in strömendem Dampf 30 Minuten nachsterilisiert werden. Zum Gebrauch gibt man einem verflüssigten Kölbcheninhalt 0,5 g Natriumzitrat und 2 ccm 1,5%ige alkoholische Bromthymolblau-Lösung hinzu, füllt zu 5 ccm in Röhrchen, die im Dampftopf 20 Minuten nachsterilisiert und dabei vom Alkohol wieder befreit werden. Die schräg erstarrten Röhrchen, die alle eine grüne Farbe aufweisen, sind im Eisschrank lange haltbar.

b) Zur Beimpfung der Röhrchen stellt man eine Aufschwemmung einer Oese Kulturmasse in 1 ccm Kochsalzlösung her und streicht davon eine Oese auf den Schrägröhrchen aus. Die beimpften Röhrchen kommen in den 37°-Brutschrank und werden 4 Tage lang beobachtet; doch ist das 24 Stunden-Ergebnis meist schon endgültig; das 48 Stunden-Ergebnis nach meiner Erfahrung jedenfalls zuverlässig.

Wie schon erwähnt, wachsen die Zitronensäure assimilierenden Bakterienstämme gut auf den Schrägröhrchen. Dabei tritt ein Farbumschlag auf: teils in blau, was Vermehrung der Alkalinität beweist, teils über blau in gelb, wodurch eine nachträgliche Säuerung angezeigt wird. Selten findet man schon bei der ersten Nachschau ohne vorherigen Blaubefund eine Gelbfärbung.

Wie schon früher erwähnt wurde, haben in neueren Coli-Aerogenesunterscheidungsarbeiten beide Reaktionen viel von sich sprechen gemacht.

Die Zitronensäureprobe wird von vielen Autoren als derzeit beste und sicherste Reaktion anerkannt.

So hält Koser 1923 (7) und in Uebereinstimmung mit ihm Pesch 1929 (11) die Nichtauswertung von Natriumzitrat für ein charakteristisches, konstantes Merkmal für Bact. coli, hinter dem alle übrigen Unterscheidungsmethoden zurücktreten müßten. Auch Berry und Ey (12) 1926 sehen in der Koserschen Zitratprobe ein wichtiges Mittel für die Zwecke der sanitären Wasseruntersuchung. Minkewitsch, Rabinowitsch und Joffe (13) 1932 geben gleichfalls an, daß der einzige zuverlässige Indikator der frischen fäkalen Verunreinigung, die in epidemiologischer Hinsicht die größte Rolle spielt, das typische, zitratnegative Bact. coli ist. Auch in einer 1923 von Gerber (14) veröffentlichten Arbeit wird die Zitratprobe nach Koser als sehr geeignet zur Trennung von Coli und Aerogenes hingestellt. In Lehrbücher hat aber die Probe noch keinen Eingang gefunden.

Ueber den Wert der AMC-Probe gehen die Meinungen in den einzelnen Differenzierungsarbeiten sehr auseinander. Die Mehrzahl lehnt die Reaktion als zu unsicher ab.

Berry und Ey (12), Bardsley (15) und Gerber (14) gehören zu denen, die die praktische Verwendbarkeit der AMC-Probe als Unterscheidungsmittel vollkommen verneinen. Nyberg, Bonsdorff und Kauppi (16) 1937 halten zwar die AMC-Bildung für ein gutes und konstantes Unterscheidungsmerkmal zwischen Coli und Aerogenes, fanden aber bei Nachuntersuchungen von 138 aus Kloakenwasser isolierten Stämmen nach 2 Jahren bei 7 Stämmen eine Variabilität gegenüber der AMC-Probe. Magalhaes (17) 1924 stellte dagegen bei seinen Untersuchungen fest, daß der negative Ausfall der AMC-Probe für fäkale Coli stets charakteristisch ist. 1940 hat Wernig (5) versucht, den Gründen für die Uneinheitlichkeit der von den verschiedenen Autoren angegebenen Ergebnisse auf die Spur zu kommen. Dabei hat er festgestellt, daß sich die Reaktion durch Berücksichtigung optimaler Nährlösungen, optimaler Bebrütungszeit und Zusatz katalysatorisch wirkender Stoffe weitgehend verbessern läßt. Er glaubt nun mit der von ihm ausgearbeiteten Untersuchungstechnik die Fehlerquellen so ziemlich ausgemerzt zu haben, so daß die Reaktion als sicher und zuverlässig bezeichnet werden kann.

Die Aufgabe, die mir von Prof. Süßmann gestellt wurde, war es, die Wernigsche Modifikation der AMC-Probe zusammen mit der Zitronensäurevergärung nach dem Vorgehen von Minkewitsch und Rogosin neben einigen anderen, später noch behandelten Proben an einer größeren Anzahl von Stämmen der Coli-Aerogenes-Gruppe auf ihre Zuverlässigkeit nachzuprüfen.

Die Stämme — 89 im ganzen — wurden größtenteils in unserem Institut aus Stühlen, Urinen, Leichenorganen und Milchproben der Bayerischen Milchversorgung Nürnberg isoliert, 13 Aerogeneskulturen in freundlicher Weise von auswärtigen Instituten zur Verfügung gestellt.

Zunächst wurden 7 Keime ausgeschieden, bei denen entweder die Indolreaktion negativ war oder die Laktosevergärung nur unter Säuerung, nicht aber mit Gasbildung verlief. Bei allen übrigen Stämmen handelte es sich um typische und indolpositive Vertreter der Coli-Aerogenes-Gruppe.

Als erstes ergab sich die Aufgabe, die eigenbeweglichen von den unbeweglichen Stämmen zu trennen. Ursprünglich war beabsichtigt, die Befunde im hängenden Tropfen durch den Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens von Geißeln zu sichern. Da aber die Geißelfärbungspräparate, von den zeitraubenden Schwierigkeiten der Ausführungstechnik ganz abgesehen, nicht immer zweifelsfreie Befunde ergaben, so wählte ich schließlich als Kontrolle die Transmigrations-Probe, wie sie Hohn (6) empfiehlt: 0,45%iger Neutralrotagar nach Oldekop (18), aber ohne Dextrosezusatz, wird durch zentralen Stich beimpft. Eigenbewegliche Bakterien wandern rasch durch die lockere Gallerte, so daß nach 6—7, spätestens nach 12 Stunden Brutschrankaufenthalt, eine mantelförmige Trübung um den Impfstich, häufig verbunden mit orangener Verfärbung, zu erkennen ist.

Durch diese Untersuchung erhielt ich 33 unbewegliche und 49 bewegliche Stämme. Nach der Prüfung im hängenden Tropfen wären allerdings 3 Stämme noch zu den unbeweglichen zu rechnen gewesen; ich gab aber hier dem Ausfall der Transmigrationsprobe den Ausschlag, da der hängende Tropfen schwache und rasch erlahmende Eigenbewegung bekanntlich öfters nicht erkennen läßt.

Die Prüfung aller 82 Stämme mit der AMC-Probe und der Zitronensäurevergärung ergab die überraschende Tatsache, daß beide Reaktionen in allen Fällen vollkommen gleichsinnig ausfielen, d. h. wenn in den Dextrose-haltigen Nährlösungen nach O'Meara oder Wernig AMC gebildet wurde, so trat auf dem mit Zitrat versetzten Simmonsschrägagar deutliches bis üppiges Wachstum mit Verfärbung auf und ebenso waren negative AMC-Probe

und Mangel der Zitronensäureverwertung stets miteinander verbunden. Dieses Zusammentreffen kann kein Zufall sein. Es sei dahingestellt, ob er darauf beruht, daß für beide biochemischen Leistungen ein gleichartiges Ferment mitwirksam ist, jedenfalls beweist es einen so wesentlichen Unterschied der positiven und negativen Stämme in ihrem Stoffwechselgeschehen, daß dieser ohne weiteres als Grundlage für eine systematische Scheidung herangezogen werden kann.

Von den unbeweglichen Stämmen waren 20 in beiden Reaktionen positiv, 13 negativ; die eigenbeweglichen Stämme konnten in 16 positive und 33 negative geschieden werden.

Wenn man mit Escherich (1), Lehmann-Neumann (19), Habs (20), Wohlfeil in Reiter-Moellers (21) u. a. in dem Bewegungsverhalten der Bakterien ebenfalls einen grundlegenden systematischen Unterschied erblickt, so ergeben sich also vier scharf von einander abgetrennte Gruppen von Stämmen, nämlich:

I. beweglich und reaktionsnegativ,
II. unbeweglich und reaktionsnegativ,
III. unbeweglich und reaktionspositiv,
IV. beweglich und reaktionspositiv.

I. Gruppe:

(21 Stämme aus Stuhl, 8 aus Milch, 3 aus Urin, 1 aus Blut.)

Die beweglichen und reaktionsnegativen Bakterienstämme sind als die von Escherich (1) als

Bact. coli commune

bezeichnete Art aufzufassen.

Das entspricht nicht nur der Auffassung Escherichs u. a. (Seite 12) über die Beweglichkeit des echten Coli, und nicht nur der Bewertung des negativen Ausfalls der beiden untersuchten Reaktionen durch neuere Autoren (Seite 10), sondern wird auch durch andere Eigenschaften der hierhergehörigen Stämme gestützt.

Fast alle zeigten auf der Endoplatte nach mehreren Tagen den charakteristischen grünlich-schillernden Metallglanz. Schleimbildung fehlte vollkommen. Die Gasbildung aus Trauben- und Milchzucker hielt sich in mittleren Rahmen (1—2 cm hohe Gassäule in den Durhamröhrchen nach 24 Stunden); aus Rohrzucker wurde nur verzögert Gas gebildet, so daß die Höhe der Durhamsäule nach 2 Tagen 1 ccm kaum überstieg, vielfach auch darunter blieb.

II. Gruppe:

(Alle 13 Stämme stammen aus Stuhl.)

Wenn diese Stämme nach dem Verhalten bei der AMC- und Zitronensäureprobe ebenfalls dem Bact. coli commune zuzurechnen sind, spricht doch die vollkommene Bewegungslosigkeit dagegen. In einer Reihe von Geißelpräparaten konnten Bakteriengeißeln nicht gefunden werden.

Dabei entsprechen die Stämme im übrigen aber meist ganz dem Bilde des Bact. coli, wie es eben beschrieben wurde. Nur 3 Stämme wuchsen auf den Nährböden schleimig, so daß man sie äußerlich für Aerogenesbakterien hätte halten können, und zeigten auf der Endoplatte dementsprechend keinen Fuchsinglanz.

Ich habe diese Bakteriengruppe mit Krause (2) als

Bact. coli immobile

aufgefaßt, wobei es freilich dahingestellt bleibt, ob sie mit dem echten Coli tatsächlich — als Geißelverlustmutante — in so enger systematischer Verwandtschaft steht, um mit dem gleichen Speziesnamen belegt zu werden. Wie die Schleimbildung einzelner Stämme zeigt, ist es auch fraglich, ob die ganze Gruppe so einheitlich als eine Art oder Unterart betrachtet werden darf wie die Gruppe I des gemeinen Bact. coli.

III. Gruppe:

(11 Stämme aus Stuhl, 3 aus Leichenorganen, 1 aus Urin und 5 unbekannter Herkunft.)

Diese Gruppe ist offenbar identisch mit dem

Bact. (lactis) aerogenes Escherich (1).

Die dem entsprechende Bewertung der Bewegungslosigkeit und der positiven AMC- und Zitratreaktion wurde oben (Seite 10) erörtert.

Es war aber auch in die Augen springend, daß die frischgezüchteten Stämme fast durchweg stark Schleim bildeten und dann auf der verlängerten Endoplatte in rosafarbenen, schleimigen, halbkugeligen Kolonien wuchsen. Bei der Weiterzüchtung verlor sich allerdings die schleimige Beschaffenheit zum Teil, auch war sie bei den zugeschickten Stämmen nicht immer deutlich. Die Vergärung von Trauben-, Milch- und Rohrzucker war zumeist, doch nicht durchaus stürmisch, so daß dann die Höhe der Durhamgassäule schon nach 1 Tag 3 ccm betrug oder überschritt. Umgekehrt war die Indolbildung gegenüber den beiden vorhergehenden Gruppen verzögert und erst nach 48 Stunden deutlich positiv.

IV. Gruppe:

(10 Stämme aus Milch, 3 aus Stuhl, 1 aus Blut, 2 unbek. Herkunft.)

Gruppe IV gleicht in ihrer Reaktionsweise ganz dem Bact. (lactis) aerogenes. Ein auffallendes Merkmal ist aber vorhanden. Die Bakterien sind im Gegensatz zu dem vollkommen unbeweglichen Aerogenes im hängenden Tropfen sehr lebhaft beweglich, viel schneller als die Coli, und deswegen möchte ich sie dem

Bact. cloacae Jordan

zuzählen, das sich nach diesem Autor durch seine Beweglichkeit von den Aerogenes unterscheiden soll. Nach ihm soll dieses allerdings auch Gelatine langsam verflüssigen. Dies konnte ich bei meinen Stämmen nicht bestätigen. Vielleicht liegt diese Diskrepenz aber nur in einer Verschiedenheit der Methodik. Denn meine Beobachtungen gründen sich auf die von Zeissler (23) bei anaeroben Bazillen gebrauchte Technik (5 tägige Bebrütung des beimpften Röhrchens, alsdann Abkühlung zum Nachweis der Wiedererstarrungsfähigkeit). Eine Wiederholung der Versuche mit Zentralstich und Beobachtung bei Zimmertemperatur konnte aus äußeren Gründen nicht mehr vorgenommen werden.

Wie auf Seite 11 ausgeführt, habe ich zu diesen Untersuchungen nur Stämme verwendet, die in ihren Grundmerkmalen völlig übereinstimmten, und 7 leicht abweichende Stämme zunächst ausgeschieden. Nach Feststellung der 4 Haupttypen der Coli-Aerogenes-Gruppe versuchte ich auch diese in das Schema einzureihen.

4 indolnegative Stämme.

Ein Stamm (aus Stuhl), der mäßig eigenbeweglich war und sich gegenüber den beiden Prüfungsreaktionen negativ verhielt, muß der Gruppe I (Bact. coli commune) zugerechnet werden.

Die 3 anderen Stämme (2 aus Stuhl, 1 aus Wasser) waren unbeweglich und reaktionspositiv. Sie gehören daher in die Gruppe III (Bact. aerogenes). Für diese Gruppe ist ja ohnehin die Indolpositivität nicht so ausgesprochen typisch; auch meine positiven Stämme bildeten verzögert Indol, und so ist das völlige Fehlen der Indolbildung nicht als grundsätzlicher Unterschied aufzufassen. Manche Autoren (Magelhaes (17), Hees und Tropp (24)

fanden sogar bei keinem ihrer geprüften Aerogenesstämme Indol; hierbei kann es sich freilich um Zufall oder um Unterschiede in der Technik handeln. Meine Befunde sind mit Stierhoden-Hottingerbrühe als Nährlösung und dem p-Dimethylaminobenzaldehyd-Salzsäurereagens gewonnen.

Es ist aber bemerkenswert, daß auch unter den durch die geschilderten biologischen Reaktionen gekennzeichneten echten Colistämmen ausnahmsweise ein indolnegativer vorkommt.

3 Stämme, die aus Laktose nur Säure, aber kein Gas bildeten.

2 bewegliche, reaktionsnegative Stämme (aus Stuhl) reihen sich der Gruppe I (B. coli commune) an und bilden somit einen Uebergang zu dem völlig laktosenegativen B. paracoli.

1 unbeweglicher, ebenfalls reaktionsnegativer Stamm (aus Stuhl) schließt sich damit der Gruppe II (B. coli immobile) an.

Mit diesen Feststellungen glaube ich bewiesen zu haben, daß die AMC- und Zitronensäureprobe im Zusammenhang mit der Feststellung der Beweglichkeit der Bakterien wertvolle und für das Laboratorium sehr wohl geeignete Mittel sind, um in der großen Coli-Aerogenes-Gruppe eine einigermaßen klare Scheidung herbeizuführen. Beide Reaktionen sind in der besprochenen Methodik ohne irgendwelche Schwierigkeiten auszuführen und zur Feststellung der Ergebnisse ist keine lange Beobachtungszeit notwendig.

Außer den vorbesprochenen Differenzierungsreaktionen habe ich auch das Verhalten der sämtlichen 89 Stämme in Simmonssubstrat-Schrägagarröhrchen (Seite 9) geprüft, die mit Dextrose, Laktose, Arabinose, Rhamnose oder Dulzit (0,4 g auf 200 ccm) versetzt waren. Auch hier war Wachstum und Farbumschlag des zugesetzten Bromthymolblaus die Anzeige dafür, ob ein geprüfter Stamm das betreffende Kohlehydrat als einzige Kohlenstoffquelle auszunützen vermochte.

Dabei stellte sich heraus, daß die 3 erstgenannten Zuckerarten, also Dextrose, Laktose und Arabinose, von sämtlichen Stämmen ausgenützt wurden, auch von den 3 Stämmen, die aus Trauben- und Milchzucker im Stierhoden-Hottingerbrüheröhrchen kein Gas zu bilden imstande waren.

Gegenüber der Rhamnose verhielten sich alle Stämme der Gruppe II, III, IV und die anhangsweise genannten, leicht atypischen Stämme ebenso, nur unter den 33 typischen Stämmen des B. coli (Gruppe I) fanden sich 6 rhamnosnegative.

Die Dulzitverwertung war innerhalb aller 4 Gruppen so uneinheitlich, daß es wertlos ist, Zahlen anzugeben.

Als Unterscheidungsmittel innerhalb der Coli-Aerogenes-Gruppe kommt nach meinen Untersuchungen keine der vorgenannten Kohlehydrat-Ausnützungsproben in Frage.

Besser waren meine Erfahrungen mit der schließlich noch geprüften Methylrotreaktion nach Clark und Lubs (24), die ich nach der von Wernig (a. a. O.) übernommenen Vorschrift ausführte. Die Unterschiede im Reaktionsausfall beruhen auf der Verschiedenheit der durch die Dextrosegärung hervorgerufenen Wasserstoffionen-Endkonzentration. Nach dem Schrifttum entstehen bei der Colivergärung vorwiegend fixe Säuren (Milchsäure, Essigsäure), bei der Aerogenesgärung aber mehr flüchtiges CO_2; daher ist bei letzterer das End-ph der Flüssigkeit geringer, so daß bei gleichzeitiger Peptonspaltung eine gegenüber Methylrot alkalische Endreaktion resultieren muß, während die Coli-Gärbrühe sauer bleibt. Die Nährlösung ist folgende:

Dinatriumphosphat	5 g
Pepton Witte	5 g
Dextrose	5 g
Aqua dest.	1000 ccm.

Die beimpften Röhrchen werden 4 Tage lang im Brutschrank gehalten und am 5. Tage mit einigen Tropfen 0,5%iger alkoholischer Methylrotlösung versetzt. Coli-Röhrchen sollen dann die saure Rotfärbung, Aerogenes die alkalische gelbe Farbe zeigen.

Ich mußte aber die Erfahrung machen, daß man manchmal keine scharfe Farbausprägung, sondern eine orangene Zwischenfarbe erhält. Rechnet man diese Fälle zu den positiven mit Rotfärbung, so entsprechen in der Tat meine 33 geprüften Colistämme der Gruppe I bis auf einen einzigen der Forderung; ebenso die sich der Gruppe anschließenden 2 laktoseschwachen und der indolnegative Stamm. Auch die 13 Stämme der Gruppe II (Coli immobile) waren einschließlich des einen laktoseschwachen Stammes vorwiegend methylrotpositiv; nur 2 sonst typische Fälle zeigten Gelbfärbung. Von den 20 Aerogenesstämmen der Gruppe III entsprachen aber 5 nicht der Regel, indem sie die saure Farbe annahmen; bei den 3 angeschlossenen indolnegativen Stämmen ergab

sich jedoch der gelbe Farbton. In der Gruppe IV des B. cloacae kam es bei 11 Stämmen zur negativen, bei 5 Stämmen zur positiven Reaktion.

Aus diesen Ergebnissen kam ich zu dem Schlusse, daß die Methylrotreaktion im großen und ganzen den im Schrifttum angegebenen Unterschied zwischen Coli und Aerogenes wohl erkennen läßt, daß aber ihre Zuverlässigkeit an die der AMC-Probe und Zitronensäurevergärung doch nicht heranreicht. Berücksichtigt man noch die um 2 Tage längere Bebrütungszeit, so ergibt sich jedenfalls aus der Uebernahme der Reaktion in die „bunte Reihe" kein ausgesprochener Vorteil.

Zusammenfassung.

1. Die in ihrer ursprünglichen Form als Voges-Proskauersche Reaktion bekannte Reaktion auf Acetylmethylcarbinol (AMC-Probe) nach der von Wernig angegebenen Modifikation und die Natriumcitratvergärung, wie sie Minkewitsch und Rogosin ausführten, werden genau beschrieben.
2. An Hand einer größeren Anzahl von Coli-Aerogenes-Stämmen wurden beide Reaktionen auf ihre diagnostische Brauchbarkeit geprüft. Dabei ergab sich eine 100%ige Uebereinstimmung im Ausfall beider Reaktionen.
3. Unter weiterer Heranziehung der Prüfung auf Eigenbeweglichkeit (Transmigrationsprobe) konnten die Stämme in folgende 4 Grupper unterteilt werden:

	reaktionsnegativ	reaktionspositiv
eigenbeweglich	I. = B. coli commune	IV. = B. cloacae
unbeweglich	II. = B. coli immobile	III. = B. lactis aerogenes

4. Außerdem wurden die Stämme noch einigen weiteren biologischen Reaktionen unterworfen. Von diesen reichte die Methylrotreaktion an Zuverlässigkeit an die beiden obengenannten Proben nicht ganz heran; die anderen wurden als diagnostisch bedeutungslos befunden.

Zum Schluß der Arbeit möchte ich es nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. Süßmann für die Ueberlassung des Themas und seine vielfachen Ratschläge bei der Ausführung der Arbeit sowie für die Uebernahme des Referats zu danken.

Benütztes Schrifttum:

1. Escherich: Z. f. B., O. 1, 705 (1887).
2. Kruse: Flügges Lehrbuch d. Hygiene, 3. Auflage (1896).
3. Jordan: erwähnt in Haupt: Ergebnisse der Hygiene, 17, 185 (1935).
4. Hueppe: Mitteilungen aus dem Gesundheitsamt, II, 309.
5. Wernig: Z. f. B., O. 145, 270 (1940).
6. Z. f. B., L. 15. 242 (1895).
7. Koser: J. Bact. 8, 493 (1923).
8. Simmons: J. of inf. Dis. 39. 209 (1926).
9. Minkewitsch u. Rogosin: Z. f. B., O. 124, 159 (1932).
10. Hohn u. Herrmann: Z. f. Hyg. 117. 724 (1936).
11. Pesch: Gesundheits-Ing. 1929.
12. Berry u. Ey: Amer. J. Public Health 494/590 (1926).
13. Minkewitsch, Rabinowitsch u. Joffe: Z. f. B., O. 137. 152 (1937).
14. Gerber: Z. f. B., O. 141. 80 (1938).
15. Bardsley: J. of Hyg. 25. 11.
16. Nyberg, Bonsdorff u. Kauppi: Z. f. B., O. 139. 13 (1937).
17. Magelhaes: Cr. Soc. Biol. 91. 234 (1924).
18. Oldekop: Z. f. B., O. 35. 120 (1904).
19. Lehmann-Neumann: Bakt. Diagnostik (1927).
20. Habs: Bakteriologisches Taschenbuch 1940.
21. Reiter-Möllers: Grundriß d. Hygiene, 587 (1940).
22. Zeissler: Hdb. d. Bakt. von Kolle, Kraus u. Uhlenhuth, X. 72.
23. Hees u. Tropp: Z. f. B., O. 100. 273 (1926).
24. Clark u. Lubs: Z. f. B., R. 64. 410 (1916).

Lebenslauf.

Als Tochter des jetzigen Oberlandesgerichtsrates Joseph Englert und seiner Ehefrau Martha, geb. Schnabel, wurde ich am 23. 1. 1916 in Kaiserslautern geboren. Nach 4jährigem Besuch der Volkshauptschule in Nürnberg, wohin mein Vater 1920 versetzt wurde, verbrachte ich 3 Jahre im Lyzeum des Instituts der Englischen Fräulein und trat dann in die 4. Klasse des Städt. Mädchenrealgymnasiums über. Hier legte ich Ostern 1935 meine Reifeprüfung ab. Anschließend genügte ich der Arbeitsdienstpflicht. Im W. S. 35/36 begann ich in Erlangen mit dem Studium der Medizin und machte hier nach 2 Semestern das Vorphysikum. In Würzburg, wo ich die nächsten 3 Semester verbrachte, bestand ich im Frühjahr 1938 das Physikum. Die 3 anschließenden Semester studierte ich in Hamburg, Freiburg und Frankfurt/Main. Im Oktober 1939 kehrte ich nach Erlangen zurück, wo ich am 27. September 1940 mein Studium mit dem Staatsexamen abschloß.